

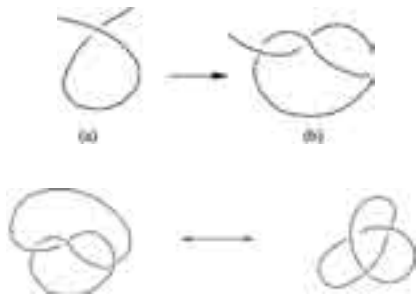


Leotardo gris, 2001

Nudos para explicar enzimas

◆Margareta Boege
Gabriela Hinojosa

En nuestra vida cotidiana hemos tenido con tacto con nudos, por ejemplo, cuando nos amarramos las agujetas de los zapatos o amarramos algún cordón.



Si unimos los extremos de la cuerda en (b), obtenemos lo que en teoría de nudos se conoce como nudo trébol

También en la naturaleza existen nudos. Por ejemplo, una molécula de ADN se puede pensar como un hilo, en forma de segmento o de círculo, contenido en el núcleo de la célula, que es un espacio de dimensión tres. Éste es el ejemplo que queremos explicar con detalle: una molécula de ADN es muchísimo más larga que el núcleo de la célula donde se encuentra por lo que tiene que estar enredada. La manera como se enreda, se

tuerce y se anuda, interfiere directamente con los procesos vitales de replicación, transcripción y recombinación del ADN. A su vez, al realizar estos procesos, las enzimas (topoisomerasas) manipulan el ADN cambiando la forma en que está colocado dentro de la molécula. Por ejemplo, una molécula que tiene forma de un círculo se puede convertir en un nudo trébol.

Nuestro problema, más específicamente, es usar la teoría de nudos para explicar lo que hace una de estas enzimas. Hasta ahora no hay métodos para observar a las enzimas en acción, pero se pueden observar las moléculas antes y después de que actúen las enzimas, detectar el cambio que se produce y deducir algo sobre la acción de la enzima. Para detectar estos cambios comenzamos con una molécula de ADN circular, pues si es un segmento lineal, aunque se anude podría desanudarse con el movimiento de la molécula en la célula.

¿Cómo podemos observar la forma de una molécula y, más aún, saber qué cantidad de moléculas hay de cada forma? Para responder a esto, lo que se debe hacer es pasar moléculas de ADN cargadas negativamente por un gel. La movilidad que tienen las moléculas es altamente dependiente de su forma

◆Profesora, Facultad de Ciencias
Profesora-Investigadora, Facultad de Ciencias

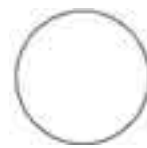
(y de su peso molecular, pero en este caso todas las moléculas tienen el mismo peso), de manera que las moléculas de la misma forma tienen la misma velocidad y al final uno obtiene bandas discretas (una por cada forma) en el gel. De cada una de estas bandas se extrae el ADN y se procesa para observarse en un microscopio electrónico.

Entonces, para observar el efecto de la acción de una enzima, se empieza con una gran cantidad de moléculas circulares, no anudadas, no enlazadas. Luego se hace reaccionar una concentración alta de enzima purificada con estas moléculas. Finalmente, se observan las moléculas que quedan después de la reacción con el método que describimos arriba. Las moléculas antes de la reacción se llaman el *substrato*, después de la reacción se llaman el *producto*.

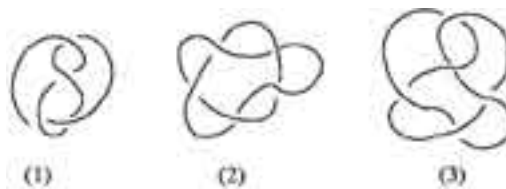
En la siguiente sección explicaremos algo acerca de la teoría de nudos y en la última sección usaremos la teoría de nudos para explicar la acción de la enzima Tn3-resolvasa.

Algunos conceptos

En matemáticas el estudio de nudos¹ es relativamente reciente, surge hace aproximadamente cien años y forma parte de una rama de las matemáticas llamada teoría de 3-variedades. Para nuestros propósitos, vamos a llamar *nudo* a una curva cerrada simple en el espacio. Una curva cerrada simple en el espacio, sin anudar es denominada nudo trivial.



Existen muchos nudos,



Consideremos los nudos 1 y 2. A simple vista lucen diferentes, pero ¿existirá la manera de cambiar el nudo 1 en el nudo 2?, es decir, ¿podemos manipular la forma del nudo 1, cambiándolo lentamente y sin cortarlo, para obtener la forma del nudo 2? Si esto es posible, decimos que los nudos son *equivalentes*.

En general, saber si dos nudos son equivalentes es muy difícil, por ejemplo los nudos a pesar de que a simple vista parecen completamente distintos, son equivalentes. Mientras los nudos son distintos, ya que uno es la imagen espejo del otro.

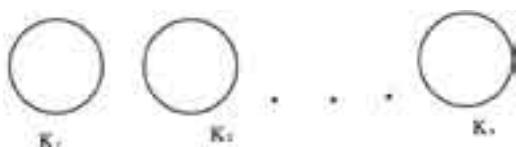




¹ K. Murasugi. *Knot Theory and its Applications*. Birkhäuser, 1996.

Enlaces

Una colección finita de nudos $\{K_1, K_2, \dots, K_n\}$ que no se intersectan entre sí, se llama *enlace*. Cada nudo K_i es un *componente* del enlace. Ejemplos:

1. el enlace formado por n nudos triviales

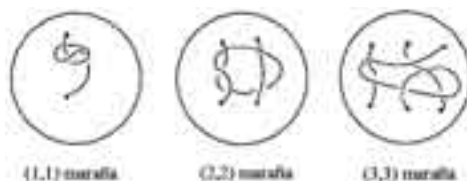


2. El enlace de Whitehead, formado por dos componentes	3. Los anillos de borro-mean, consistente en tres componentes.
	

Al igual que en nudos, tenemos la noción de equivalencia de enlaces. Decimos que dos enlaces $L_1 = \{K_1, K_2, \dots, K_n\}$ y $L_2 = \{K_1', K_2', \dots, K_m'\}$ son *equivalentes* si tienen el mismo número de componentes, es decir, si $n=m$ y si podemos cambiar K_1 en K_1' , K_2 en K_2' , y así sucesivamente hasta cambiar K_n en K_m' , sin intersectar ninguna otra componente y sin cortar.

Marañas

En la esfera, denotada por S^2 , colocamos $2n$ puntos. Una (n,n) *maraña* T se forma uniendo estos puntos por n curvas, tales que no se intersectan entre sí. Cada curva se encuentra en la bola B^3 cuya frontera es S^2 .



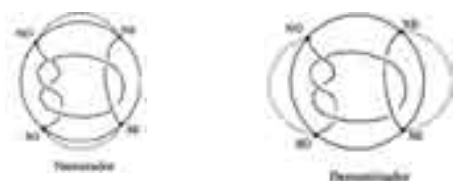
Al igual que en nudos y enlaces, dos (n,n) marañas T_1, T_2 en B^3 son *equivalentes* si podemos cambiar T_1 en la forma de T_2 en B^3 , sin romper y manteniendo fijos los $2n$ puntos de S^2 . De aquí en adelante, nos vamos a restringir al caso de $(2,2)$ marañas.



Supongamos que fijamos cuatro puntos en la esfera S^2 , entonces podemos formar una $(2,2)$ maraña uniendo estos puntos por dos curvas en B^3 .



El nudo (o enlace) obtenido al unir los puntos NO y NE, SO y SE por curvas simples fuera de B^3 , es llamado el *numerador* de la maraña y es denotado por $N(T)$. Similarmente, si unimos los puntos NO y SO, NE y SE por curvas simples fuera de B^3 , obtenemos un nudo (o enlace), llamado el *denominador* de la maraña y es denotado por $D(T)$.



Mediante este proceso a cada (2,2) maraña le hemos asociado dos nudos (o enlaces) distintos.

Además, a dos marañas le podemos asociar otra maraña, es decir, podemos *sumar* marañas y el resultado es otra maraña. Para esto, primero colocamos la maraña T_1 en la bola B_1 y T_2 en la bola B_2 . Luego, las bolas B_1 y B_2 se *unen* para formar una gran bola B_0 que contiene a B_1 y B_2 . Entonces los puntos NE y SE de T_1 se conectan a los puntos NO y SO de T_2 por segmentos. La maraña resultante es denotada por $T_1 + T_2$. Los puntos NO y SO de la maraña resultante son los de T_1 y los puntos NE y SE son los de T_2 .



El numerador de esta suma es



En la siguiente sección veremos que la acción de la enzima Tn3-resolvasa se puede expresar matemáticamente como el numerador de una suma de marañas.

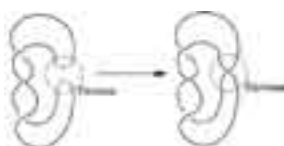
Secuencias

La Tn3-resolvasa² es una enzima de recombinación sitio-específica. La recombinación sitio-específica es una de las maneras mediante las cuales la naturaleza reordena secuencias de ADN. A veces durante este proceso se cambia un bloque de ADN de posición dentro de la molécula, a veces se integra un bloque de ADN de otra molécula. En el caso de la Tn3-resolvasa lo que sucede es lo siguiente: se reconocen los sitios de recombinación, que son dos fragmentos lineales de ADN dentro de la misma molécula. Ésta es una enzima cuyos sitios de recombinación tienen la misma orientación global (hay enzimas cuyos sitios de recombinación tienen orientaciones opuestas):



Se mueve la molécula de manera que los sitios quedan uno frente al otro. Aquí llega la enzima y corta las cadenas para volverlas a pegar:

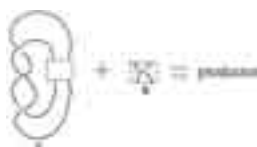
² D.W. Sumners. "Untangling DNA". *Math. Intell.* 12 (3), 1990, pp. 71-80.



Este paso es el que entenderemos a través de un modelo que usa la teoría de nudos. Pensaremos en la enzima como una bola de dimensión tres. Obsérvese que nuestra enzima divide a su entorno en dos partes: adentro y afuera. La parte de afuera también se puede pensar como una bola de dimensión tres, que comparte su frontera con la bola formada por la enzima. Así, el sustrato se puede ver como el numerador de la suma de dos marañas:



De la misma manera, el producto se puede ver como el numerador de la suma de dos marañas:



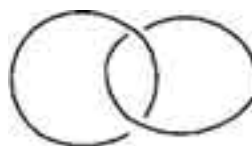
Recordemos ahora que podemos observar la forma del sustrato y del producto. En este caso sabemos que el sustrato es un círculo (empezamos con moléculas circulares, no anudadas, no enlazadas)

y observamos que el producto es un enlace. Más específicamente, tenemos que:

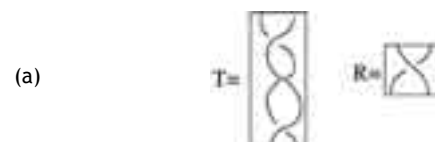
(1) $N(S+T) =$



(2) $N(S+R) =$

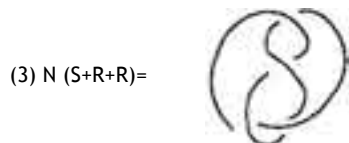


Son dos ecuaciones con tres variables. Necesitamos una condición más. Cuando la enzima actúa, toda la acción se desarrolla dentro de su esfera de influencia. Podemos suponer que afuera no pasa nada, y que la frontera de la esfera se queda fija. Es decir, la acción de la enzima sólo depende de R y de T, pero no de S. Queremos ver si podemos determinar la forma que tienen R y T. Podría haber muchas formas de R y T que cumplan (1) y (2), por ejemplo:

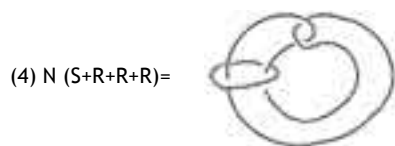


Por lo que necesitamos más información. En general, después de la recombinación la enzima suelta a la molécula, pero una de cada veinte

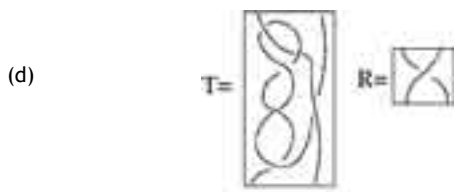
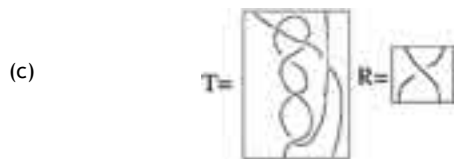
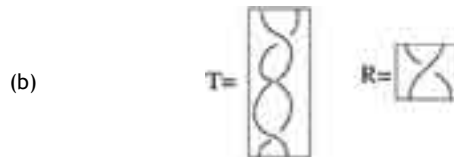
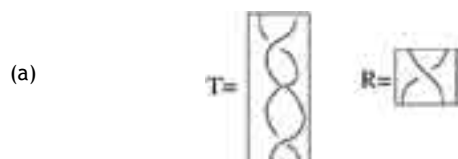
veces no la suelta y vuelve a actuar. Cuando actúa dos veces tenemos que:



Y si tenemos suficientes moléculas, podemos observar que cuando actúa tres veces tenemos:

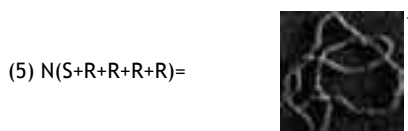


Usando esta información se puede deducir cómo son S y R. Primero se prueba un resultado técnico sobre el tipo de marañas que se tienen (racionales), que hemos omitido aquí porque se usan resultados fuertes de teoría de nudos. Una vez que se tiene esta condición, se puede aplicar un cálculo³ para probar que si se cumplen (1), (2) y (3) entonces R y T tienen que ser alguno de:



y si se cumplen (1), (2), (3) y (4) entonces R y T tienen que ser (a) de la figura anterior.

El modelo pasó una prueba adicional: si R y T son los que pensamos, entonces cuando la enzima actúa cuatro veces nos quedaría:



El ejemplo anterior nos muestra cómo se pueden usar conceptos que provienen de la teoría de

³ C. Ernest, D.W. Sumners. *A calculus for rational tangles; applications to DNA recombination*. Math. Proc. Cambridge Phil. Soc. 108, 1990, pp. 489-515.

⁴ S.A. Wasserman, J.M. Dungan, N.R. Cozzarelli. "Discovery of a predicted DNA knot substantiates a model for site-specific recombination", en *Science* 229, 1985, pp. 171-174.

nudos para explicar la acción de una enzima. Desde nuestro punto de vista, conocer este ejemplo tiene dos ventajas: la primera es que nos permite entender un concepto que puede parecer una invención abstracta como algo que ocurre en la naturaleza. Es decir, tal vez la idea de una curva cerrada en un espacio de dimensión tres no dice nada, pero imaginar una molécula de ADN anudada en el núcleo de una célula, sí. Es posible que operaciones como la suma de marañas o el numerador de una maraña parezcan carentes de sentido, pero al relacionar la acción de una enzima con el numerador de la suma de dos marañas obtenemos una imagen tangible de estas operaciones.

La segunda ventaja proviene de una de las características de las matemáticas: la abstracción. Vimos un ejemplo concreto, la acción de la enzima Tn3-resolvasa. Esto nos provee de un método para explicar la acción de otras enzimas en donde,

muy probablemente, los nudos o enlaces que se obtienen son distintos, pero el razonamiento es el mismo. Más aún, si en algún otro momento nos encontramos con otro problema que involucre objetos que puedan ser descritos como marañas, podemos aplicar lo que sabemos de éstas para resolver el nuevo problema.

Así como el ejemplo que vimos, también existen otras aplicaciones de geometría y topología en biología. La interacción entre estas dos ramas del conocimiento está en sus inicios, pero si pensamos que en problemas biológicos, además de los aspectos que dependen de la biología y de la química, existen también aspectos que dependen de cómo están colocados los objetos en el espacio, y consideramos que esto es precisamente lo que estudian la geometría y la topología, podemos considerar que esta interacción tiene un buen futuro.